




# METHOD AND DEVICE FOR DETECTING MOLECULE OF ORGANISM

**Patent number:** JP7174693  
**Publication date:** 1995-07-14  
**Inventor:** IENSU PEETAA ZEEHAA  
**Applicant:** HEWLETT PACKARD CO  
**Classification:**  
**- international:** G01N21/55; G01N21/55; (IPC1-7): G01N21/27; G01N33/543  
**- european:** G01N21/55B2  
**Application number:** JP19920173772 19920608  
**Priority number(s):** EP19910109430 19910608

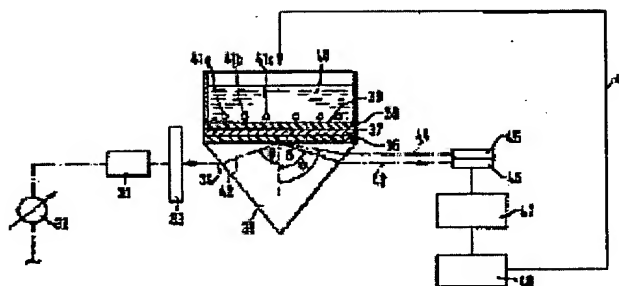
Also published as:

 EP0517930 (A1)  
 US5341215 (A1)  
 EP0517930 (B1)

Report a data error here

## Abstract of JP7174693

**PURPOSE:** To detect existence and density of a vital molecule by accurately controlling energy coupled to the vital molecule. **CONSTITUTION:** Vital molecules 41a-41c are contacted with a surface having less conductive film interposed between a medium 35 of optical high density and a medium 40 of optically low density and the medium side of optically high density is irradiated by (P) deflecting electromagnetic wave. An incident angle ( $\theta$ ) of an electromagnetic wave 42 of the electromagnetic wave impacting to a surface 39 equals an angle for causing essentially plasmon resonance and surface plasmon wave by the vital molecule is generated. Strength of the electromagnetic wave caused by reflection of the vital molecule is detected on a boundary surface and existence and/or density of the vital molecule is detected by analyzing the reflected or caused electromagnetic wave. The incident angle ( $\theta$ ) of the (P) reflecting electromagnetic wave 42 is controlled based on the strength of the electromagnetic wave reflected on the surface. The strength is nearly kept to minimum corresponding to generation of the surface plasmon resonance and the reflected angle of the reflected electromagnetic wave substantially corresponds to the incident angle ( $\theta$ ).



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

**THIS PAGE BLANK** (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-174693

(43) 公開日 平成7年(1995)7月14日

(51) Int.Cl.<sup>6</sup>

G 0 1 N 21/27  
33/543

識別記号

C

庁内整理番号

5 9 5

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 2 F D (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願平4-173772  
(22) 出願日 平成4年(1992)6月8日  
(31) 優先権主張番号 9 1 1 0 9 4 3 0 . 8  
(32) 優先日 1991年6月8日  
(33) 優先権主張国 ドイツ (D E)

(71) 出願人 590000400  
ヒューレット・パッカード・カンパニー  
アメリカ合衆国カリフォルニア州パロアル  
ト ハノーバー・ストリート 3000  
(72) 発明者 イェンス ベーター ゼーハー  
ドイツ連邦共和国 7000 シュトゥットウ  
ガルト 70 レンピシュトラッセ 9

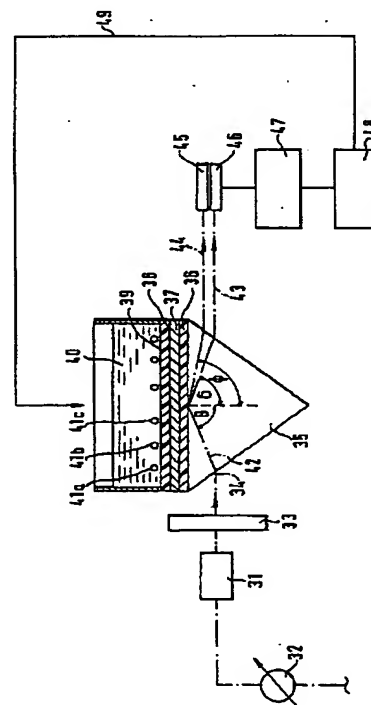
(54) 【発明の名称】 生体分子検出方法および装置

(57) 【要約】

【目的】 生体分子に結合されるエネルギーの正確な制御を行い、生体分子の存在や濃度を検出する。

【構成】 光学的に濃度の高い媒体35と光学的に濃度の低い媒体40との間に存在する導電性の薄いフィルムを有する界面に生体分子41a~41cを接触させ、

(a) 光学的に濃度の高い媒体側からp偏向電磁波を照射する。界面39に衝突する電磁波の電磁波42の入射角( $\theta$ )は、実質上表面プラズモン共鳴を生じさせる角に等しく、生体分子による表面プラズモン波が発生する。(b) 境界表面で生体分子により反射または発生した電磁波の強度を検出し、前記反射または発生した電磁波を解析して生体分子の存在および/または濃度を検出する。(c) 界面で反射する電磁波の強度に基づいてp偏向電磁波42の入射角( $\theta$ )を制御する。前記強度は表面プラズモン共鳴の発生に対応する最小限にほぼ保たれ、反射電磁波の反射角は入射角( $\theta$ )にほぼ一致する。



## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 光学的に濃度の高い媒体と光学的に希薄な媒体との間に存在する導電性の薄いフィルムを有する界面に、生体分子を少なくとも、

(i) 前記界面への吸収、

(ii) 前記界面上への被着、

(iii) 前記界面への物理的または化学的接合により接触させて、前記生体分子を検出する方法であって、以下のステップからなることを特徴とする生体分子検出方法。

(a) 前記界面上に前記光学的に濃度の高い媒体を通過する可視光を用いて、p 偏向電磁波を照射するステップ。前記界面に衝突する電磁波の入射角 ( $\theta$ ) はほぼ表面プラズモン共鳴を生じさせる角 ( $\theta_{SPR}$ ) に等しく、表面プラズモン波は該表面プラズモン波に応じて電磁波を反射または発生する前記界面で前記生体分子に起因して生じる。

(b) 前記生体分子により反射または発生する電磁波をモニタし、少なくとも、

(i) 前記生体分子の存在

(ii) 前記生体分子の濃度

を前記反射または発生した電磁波の解析により検出するステップ。前記生体分子により前記界面で反射または発生した電磁波の強度は検出される。

(c) 前記界面で反射する電磁波の強度に基づいて p 偏向電磁波の入射角 ( $\theta$ ) を制御するステップ。前記強度は表面プラズモン共鳴の発生に対応する最小限にほぼ保たれ、反射電磁波は入射角 ( $\theta$ ) にほぼ一致する反射角を有している。

【請求項 2】 電磁波放射源と、

前記電磁波発生装置により出力される電磁波を偏向させる偏向手段と、

光学的に濃度の高い媒体と光学的に希薄な媒体との界面上で、光学的に濃度の高い媒体を通して前記 p 偏向電磁波を方向付けするための手段、

前記界面に結合された、導電性の薄いフィルムと、

前記界面で前記生体分子により反射または発生する放射をモニタするための第 1 のモニタ手段と、

前記界面で反射された電磁波をモニタするための第 2 のモニタ手段と、

前記界面で反射された前記電磁波の強度を検出するための強度検出手段と、

前記強度がほぼ表面プラズモン共鳴の発生に対応する最小限に保たれるように、前記界面で反射された電磁波の強度に基づいて p 偏向電磁波の入射角を制御するための制御手段と、からなることを特徴とする生体分子検出装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、生体分子検出方法およ

び装置に関するものである。とりわけ、本発明は、表面プラズモン共鳴を生じさせる可視光によって界面を照射し、DNA 分子が反射する励起エネルギーを検出することによって、DNA の検出を行うことに関するものである。

【0002】

【技術背景】 当該技術において、特に、液体中における濃度の低い生体分子を検出するための方法が幾つか知られている。1つの方法は、いわゆるエバネセント波 (evanescent waves) に基づくものである。検出すべき生体分子は、溶液中にあり、用いられる液体よりも光学的に濃度の高い媒体の表面 (例えば、ガラス) と密着させられる。これは、該生体分子を、ガラス表面に固定化された相補的生体分子に吸収させることによって行うことができる。検出すべき生体分子には、蛍光化合物によってマーキングが施されている。これは、直接実施することもできるし (すなわち、生体分子と蛍光物質との化学的結合によって)、あるいは、蛍光色素で標識付けされ、検出装置の一部に固定化または化学的に結合された生体分子内において、検出する生体分子と競合させることも可能である。すなわち、未知の生体分子によって蛍光生体分子が解放され、さらに、ガラス表面に固定化された相補的生体分子に吸収される。後者のプロセスについては、Phil. Trans. R. Soc. Lond. B316 (1987年) の143~160頁に記載の、Badley, R. A. 他による「Optical Biosensors For Immunoassays: The Fluorescence Capillary-fill Device」に解説がある。

【0003】 レーザ源またはフィルタ式閃光電球からの単色光が、光学的に濃度の高い媒体 (例えば、ガラス) と光学的に希薄な媒体 (例えば、水溶液) との界面を照射する。この光ビームは、光学的に濃度の高い媒体から入射し、その入射角は、臨界角以上であるため、全反射が発生する。全反射が生じると、光学的に希薄な媒体 (水溶液) にエバネセント波が生じるが、このエバネセント波は、ある波長の部分が透過して、光学的に希薄な媒体に入り込む。エバネセント波の電界振幅は、界面において最大であり、界面からの距離に応じて指数関数的に減衰する。

【0004】 エバネセント波の浸透する深度には限界があるので、こうした波は、界面における生体分子の存在をモニタするのに適している。この波によって、生体分子の蛍光付加物が入射光より波長の長い光を放出する (これが、蛍光を生じさせる有効な方法である)。この蛍光信号は、散乱光をモニタして、直接測定することもできるし、あるいは、結合して、光学的に濃度の高い媒体に戻る光を測定することによっても可能である。

【0005】 上述の技法が、ガラス/水溶液界面への吸

収に限定されるものでないのは、明らかである。代わりに、他の材料を用いることも可能である。さらに、入射光の波長をさらに長い波長にシフトする蛍光以外の効果（例えば、燐光または吸光）を利用することも可能である。後者の場合、標識付けされていない生体分子でも検出することができる。一般的な検出方法は、屈折光または反射光によって、換言すると、反射光または屈折光の角度の偏差によってモニタされる生体分子の存在によって生じる、屈折率の変化の測定に基づくものである。また、当該技術において周知のように、導波管内において複数回反射して、界面を複数回照射するように、入射光の方向付けが行われるが、これについては、例えば、Clin. Chem. 30/9 (1984年) 1533~1538頁の、Sutherland, Renald M. 他による「Optical Detection of Antibody-Antigen Reactions at a Glass-Liquid Interface」を参照されたい。

【0006】生体分子の検出に関するもう1つの技法は、いわゆる表面プラズモン共鳴 (surface plasmon resonance (SPR)) に基づくものである。この方法では、ガラスと溶液の間に薄い金属のフィルム、層、または、コーティング (より一般的に言えば、導電層または半導体層) を必要とする。所定の角度で当たると、入射光は、金属フィルムと光学的に希薄な媒体 (例えば、溶液) との界面に沿って伝搬する集団電子振動に関連した表面モード (TEおよび/またはTMモード) を生じる。入射光は、通常プリズムまたは回折格子によって金属フィルムに結合する。特定の波長または角度において、共鳴が発生し、急激に最低の反射率になる。すなわち、反射率が急激に降下する。共鳴の条件は、金属フィルムの光学特性、その厚さ、その両側における誘電体の回折率 (もしあるとすれば)、および入射光の角度によって決まる。

【0007】これらの特性のうち最初の2つは、表面プラズモン共鳴を実施する所定の装置の場合、基本的に不変のままである。しかし、光学的に希薄な媒体の屈折率は、その表面に結合する、または、吸収される生体分子の量によって変動する。これがモニタすべき特性である。

【0008】吸収された生体分子の存在および量を検出するため、入射光の所定の角度における屈折率の変動をモニタすることもできるし、あるいは、共鳴のシフト (生体分子が存在すると、最低反射率が、異なる入射角に合わせてシフトする) を観測することもできる。

【0009】表面プラズモン共鳴は、金属回折格子によって生じさせることもできるし、あるいは、全反射の結果発生するエバネセント波によって生じさせることも可能である (上記参照)。

【0010】表面プラズモン共鳴に関するこれ以上の詳

細については、15 (1988年)、11~18頁の、Daniels, P. B. 他による「Surface Plasmon Resonance applied to Immunosensors, Sensors and Actuators」および、Analytica Chimica Acta, 213 (1988年)、35~45頁の、Kooyman, R. P. H. 他による「Surface Plasmon Resonance Immunosensors: Sensitivity Considerations」を特に参照のこと。

【0011】先行技術の表面プラズモン技法は、生体分子の存在および濃度の両方または一方を検出するため、生体分子によって生じる屈折率の変化を利用した。しかし、EP-A-353957号に記載のように、免疫測定において蛍光または燐光を励起させる表面プラズモンに関連したエバネセント波の利用も既知のところである。

【0012】表面プラズモン共鳴の適用に関する一般的な問題は、生体分子を「過励起」させる可能性がある、すなわち入射電磁波から生体分子に過剰なエネルギーが伝達される、ということである。こうした場合、生体分子は、ブリーチされる可能性がある、すなわち、生体分子がその特性およびその物理的作用に変化を生じ、もはや検出不能ということになる可能性がある。この効果は、明らかに、測定結果を損なうものである。

【0013】問題は、生体分子に対するエネルギーの「ポンピング」量を制御できないということである。もちろん、 $p$  偏向電磁波源によって放出されるエネルギーは、既知のところであり、変動させることができる。しかし、生体分子に対してポンピングされる総放出エネルギーの一部は、未知である (すなわち、総放出エネルギーは、既知であるが、生体分子に加えられる部分は、未知である)。理由は、先行技術による生体分子の検出構成の場合、入射角が、表面プラズモン共鳴の発生する正確な角度にならない (今後は、この角度を  $\theta_{SPR}$  と呼ぶことにする)。これは、この角度に正確に合わせることができないか、あるいは、装置を  $\theta_{SPR}$  に合わせて正確に調整できたとしても、この角度が、温度の影響、不特定の分子 (すなわち、検出対象でない分子) の結合、金属/液体界面の変化等によってドリフトすることになるためである。従って、後者のアプローチの場合、表面プラズモン共鳴に最適の角度  $\theta_{SPR}$  に対して入射角がある程度の偏差を生じることになる。

【0014】実際の入射角が表面プラズモン共鳴に最適の角度に正確に対応しないので、結果として、 $p$  偏向電磁波によって伝達される総エネルギーのほんの一部だけしか、生体分子に加えられない。一方、上で概説したように、この一部は未知である。理想の角度に対する実際の角度の偏差を正確に求めることができたとしても、生体

分子に結合されるエネルギーの一部は、明確な偏差の関数ではないので、問題の解決にはならない。

【0015】従って、先行技術による構成の場合、生体分子に結合されるエネルギーの有効な制御は、ほとんど不可能である。もちろん、100%のエネルギーが結合したとしても、生体分子が損傷を受けないように、放射源によって放出されるエネルギーの総量を減少させることは可能である。しかし、実際の入射角と表面プラズモン共鳴にとって理想の角度 $\theta_{SPR}$ との偏差によって、エネルギー伝達の75%が減少するものと仮定すると、生体分子に対してポンピングされる残りのエネルギーでは、信頼に足る測定を行うのに不十分である。一方、放射源の総エネルギー出力が大幅に増すと、極めて低いエネルギー結合比であったとしても、信頼に足る操作が可能であるが、100%結合されると、生体分子に損傷が生じることになる。

【0016】

【発明の目的】本発明の目的は、表面プラズモン共鳴波の励起に関して上述の種類の生体分子の存在および／または濃度を検出するための方法および装置を提供することにある。この方法および装置によって、生体分子に結合されるエネルギーの正確な制御が可能になる。

【0017】

【発明の概要】上記の目的は、界面で反射する電磁波をモニタして、強度を検出し、この界面で反射する電磁波の強度に基づいて $p$ 偏向電磁波の入射角に制御を加え、強度が表面プラズモン共鳴（SPR）の発生に対応する最小限にほぼ保たれるようにすることによって解決される。

【0018】本発明の方法は、実際の入射角が表面プラズモン共鳴にとって理想の角度 $\theta_{SPR}$ に一致する場合、ほぼ100%の入射エネルギーが生体分子に結合される。すなわち、本発明は、これらの角度が、必ずほぼ等しくなることを保証する。放射源から出力される総エネルギーは、生体分子に伝達される。放射源から伝達される（既知の）エネルギーを制御することによって、生体分子が受け取るエネルギー量を正確に求めることが可能である。従って、生体分子に損傷を加えずに、最適な検出を確実にするため、検出すべき生体分子に合わせて、放射源のエネルギー出力を正確に調整することができる。

【0019】界面で反射する電磁波の強度をモニタし、その強度が基本的にその最低値に保たれるように、入射角の制御を行うことによって、理想の角度 $\theta_{SPR}$ が、保持される。留意すべきは、界面で発生する電磁波は、通常、生体分子が蛍光、燐光、および、同様の効果で発生する電磁波とは、角度が異なるという点である。これは、界面に吸収される生体分子が、屈折率を変えるためである。さらに、蛍光、燐光等によって発生する「誘発」放射線は、一般に、元の電磁波に比べると、波長が長い、または周波数が低い。従って、2つのビームを

モニタしなければならない。第1のビームは、生体分子から生じ、このビームの強度は、生体分子の存在および／または濃度を表す。第2のビームは、界面で反射する（この第2のビームの反射角は、入射角に等しい）。この第2のビームの強度は、入射角を $\theta_{SPR}$ に保持させるために、すなわち、最適な表面プラズモン波励起に合致させるために利用される。

【0020】入射角の変更は、第2のビームの強度に依存しており、該強度は最低値に保持されるが、この変更は都合のよいやり方で実施することができる。光学的に濃度の高い媒体が、透明なプリズム（特に、ガラスのプリズム）である望ましい実施例の場合、こうした変更は、前記透明なプリズムを回転させることによって実施することができる。一方、プリズムの中心まわりの円形経路に沿って放射源を移動させるといったことも可能である。

【0021】上で概説したように、この方法の一般的な利点は、最適な測定を可能にすると同時に、生体分子の損傷を回避するため、放射源のエネルギーを生体分子に正確に適合させることができるという点である。ただし、本発明の方法には、それ以外の利点もある。とりわけ、該装置は、必ず、その最適な動作点に保持されるので、エネルギーが節約される。ほぼ100%のエネルギーが、生体分子に結合されるので、多重反射波によって生じる2次的効果が生じない。さらに、温度ドリフト、不特定分子の吸収、界面の変化等の効果が、排除される。放射源のエネルギー出力が変動しないとしても、これらの利点を得ることは可能である。第1の利点、すなわち、生体分子に対する制御されたエネルギー移動を得るため、可変放射源は必ずしも必要ではないが、本発明の有利な実施例では、こうした放射源が設けられる。

【0022】本発明の有利な実施例の場合、透明なプリズムが、回転支持体によって支持されるが、前記強度の増大またはかなりの増大が検出されると、あるいは、所定の時間期間が満了すると、前記支持体は、第1の方向に回転し、次に、前記第1の方向とは逆の第2の方向に回転する。反射光の増大またはかなりの増大は、表面プラズモン共鳴の理想の角度 $\theta_{SPR}$ の値が、大きくなったか、または、小さくなったことを表すので、以前の角度に隣接する領域を探索して新しい最小値を求めなければならない。一方、連続した適正な動作を確保するため、大した増大が認められなくても、時々、現在の動作点に隣接した領域を走査することが有用である。

【0023】代替実施例の場合、界面で反射される電磁波が、いくつかのモニタ素子、例えば、フォトダイオードまたはフォトトランジスタのような、前記電磁波に感応する素子からなるアレイ・センサによってモニタされる。中心検知またはモニタ素子は、基準の働きをする。本実施例の目的は、この中心素子に焦点を合わせた反射電磁波の強度を最低にすることである。

【0024】反射ビームの焦点を中心素子に合わせたとしても、入射波および反射波は、単一の表面において振動するだけではない。すなわち、横方向の波または漂遊波も存在する。これらは、表面プラズモン共鳴にとって最適の角度 $\theta_{SPR}$ とはわずかに異なる角度で界面を照射する。中心素子に対して横方向に配置された検知素子またはモニタ素子を利用して、こうした漂遊波が記録される。従って、検出装置が、その最適点、すなわち、 $\theta = \theta_{SPR}$ で動作する場合、横方向素子によって記録される強度は、中心素子の強度よりも大きくなるものと予測される。しかし、横方向素子によって記録される強度が、中心素子によって記録される強度未満に低下する場合、これは、調整ミスのために、あるいは、表面プラズモン共鳴にとって最適の波長が、例えば、温度の影響によって、または、不特定分子の吸収によって移動したために、もはや、該装置が $\theta = \theta_{SPR}$ で動作していないことを表している。従って、これが生じると、装置の再調整のため、制御信号が発生する。中心記録素子および2つの横方向記録素子が例示のためのものであるのは、明らかである。より正確な制御のためには、より多くの横方向素子、例えば、11個のフォトダイオードからなるアレイを利用することができる。また、上記のように、1次元構成ではなく、2次元構成をなすように、検知素子を配置することも可能である。

【0025】好都合なことに、p偏向電磁波は、前記薄い導電性フィルムの通過前後に、あるいは、その何れかにおいて、薄い誘電フィルムを通過する。こうした誘電フィルムは、生体分子が吸収される金属フィルムとガラス・プリズムの間に配置される。こうした誘電層を利用すると、共鳴のピークが鋭くなり、また、関連する他の利点も得られる。基本的には、この種の誘電層は、当該技術において既知のところである（例えば、EP-A-353937号参照のこと）。

【0026】もう一つの望ましい実施例の場合、光学的に希薄な媒体は、前記生体分子が、前記界面の光学的に希薄な側に吸収され、被着し、あるいは物理的または化学的に結合されるように溶解させられる溶媒である。すなわち、生体分子は、界面の光学的に希薄な側に存在する。これは、生体分子を検出する通常の（ただし唯一ではない）方法である。いくつかの技法を用いて、溶液中の生体分子と界面の間の接触を形成することができる。そのほとんどが当該技術において周知のところである、これらの技法は、各種物理的效果と化学的效果の両方または一方を利用している。その最も一般的な方法は、単純な吸収である。ただし、検出すべき生体分子と既存のマーキングを施された生体分子の間の競合プロセスのようなより高度な方法も利用されている（例えば、Phil. Trans. R. Soc. Lond., B316, 143~160頁（1987年）の、Badley, R. A. 他による「Optical Biosenso

rs for Immunoassays: The Fluorescence Capillary-fil Device」参照のこと）。

【0027】好都合なことには、本発明の方法では、蛍光、燐光、化学発光、または、電界発光物質が用いられている。こうした物質は、表面プラズモン波によって励起され、入射波の周波数と比べて周波数の低い放射線を放出する。周波数の低い波は、同じ周波数の波に比べて、検出が容易である（公示されている先行技術の大部分においては、後者のアプローチ、すなわち、生体分子によって生じる屈折率の変化しか検出しない、すなわち、入射波の周波数と同じ周波数の光を測定するアプローチが利用されてきた）。ただし、留意すべきは、本発明が、標識付けされた生体分子を取り入れた有効な実施例に限定されるものではないということである。代わりに、吸収効果、ラマン分光学的効果、および、非線形効果に基づく測定は、本発明による方法および装置によって実施することも可能である。

【0028】標識付けされた生体分子を利用する場合、検出すべき生体分子（未知の生体分子）は、蛍光物質との化学的構造によって、直接標識付けすることが可能である。ただし、未知の生体分子のない化学的構造を変える必要のない、より高度な方法もある。通常、こうした技法では、その他の標識付けを施された生体分子が用いられる。こうした技法の1つ、すなわち、未知の生体分子と標識付け生体分子の間における競合プロセスについては、既に論述した。代わりに、相補的標識付けを施された生体分子を利用することも可能である。

【0029】次に、こうした相補的標識付けを施された生体分子に基づく有利な実施例について述べることにする。

【0030】この実施例によれば、前記界面の光学的に希薄な側には、未知の生体分子と相補性の捕獲分子によるコーティングが施されている。溶媒には、未知の生体分子に加えて、溶液中の未知の生体分子に対し、相補性の、標識付けされた生体分子も含まれている。すなわち、2種類の相補性生体分子が用いられることになる。第1の種類の生体分子は、界面に固定された捕獲分子（「補足プローブ（capture probe）」とも呼ばれる）である。第2の種類の生体分子は、例えば、蛍光物質によって標識付けが施されており、溶液に溶かされている（「標識プローブ（label probe）」とも呼ばれる）。未知の生体分子は、「目標プローブ（target probe）」とも呼ばれる。

【0031】測定時、目標プローブは、捕獲プローブに吸収される。一方、標識プローブは、目標プローブに吸収されるので、その標識が、表面プラズモン波によって励起される。

【0032】上述のプロセスは、デオキシリボ核酸（DNA）のシーケンスを検出すべき場合には、とりわけ有

効である。表面プラズモン波が励起されると、これによって、蛍光物質の標識が励起される。これらの蛍光物質による標識は、検査を受ける生体分子、すなわち、標識プローブに付けることが可能であり、極めて感度の高い、特定の検出システムが得られることになる。

【0033】例えば、特定のDNAシーケンス（「目標DNA (target DNA)」）を検出するため、まず最初に、単一のストランドをなすこの目標DNAとその相補性合成ストランドとを溶液中において混成することが提案されている。この合成ストランド（標識プローブ）は、その特異性を保証するため、16の塩基より長くなければならず、あらかじめ標識付けが施されるか、あるいは、後で標識付けが行えるように前処理が施される。次に、この目標ラベルの複合体は、金属界面において、金属界面に結合することになるもう1つの相補性合成ストランド（捕獲プローブ）に対して、混成によって固定化される。異なる誘電層の間に金属フィルムの層を埋め込むことによって、エバネセント波の強度を最適にできるだけでなく、捕獲プローブの結合を改善することも可能になる。所定の入射角において、反射ビームは、急激な効果を示すが、この角度は、標識付けが施され、固定化された目標DNAを備えるサンプルボリューム内に最大パワーを結合する角度にほとんど同一である。この急降下は、蛍光物質の標識の最大光子パワーにとって最適の条件を規定するための制御値として利用され、これによって、さらに、最低励起パワーがもたらされるので、光破壊可能性が低下する。S/N比をさらに向上させるため、崩壊率が長く、ストロークのシフトが大きい蛍光物質の標識を適用して、固有の蛍光および検出される表面プラズモン信号に対する励起光の影響を低減することが可能である。蛍光分子によって放出されるかなりの量の蛍光を濃度の高い媒体に結合することが可能である。こうした装置の利点は、サンプルボリュームと光路の間の完全な分離である。さらに、それ自体、濃度の高い媒体と整合のとれた、薄いカバー・ガラスに、異なる誘電層および金属層を被着させることが可能である。こうした修正されたカバー・ガラスは、安価で、使い捨ての装置として利用し、光源および検出器は濃度の高い媒体に一体化することができる。濃度の高い媒体は、規定の最小入射角および最大入射角を備えたウェッジ状の光ビームを結合可能な半円形プリズムとすることも可能である。

【0034】上述のプロセスに適した蛍光物質の標識には、例えば、希土類元素の金属がある。崩壊率の長いこれらの元素には、固有の蛍光の崩壊後であっても、その放出の検出が可能であるという利点があり、ストローク・シフトが大きいので、励起光、固有蛍光、および、放出光の間において光学的な反結合 (decoupling) が生じることになる。

【0035】こうした蛍光物質の標識を用いるため、ビ

オチンのような蛋白質、ジオシキゲニン、または、その他の適合する物質が、DNAストランドに挿入される。こうした蛋白質は、アビジンのような分子または抗体に特に結合し、これらは、さらに、蛍光および燐光分子を構成する。

【0036】標識DNAだけでなく、一般的な捕獲DNAも、目標DNAと相補性で、ほぼ20の塩基からなる合成オリゴヌクレオチドである。

【0037】本発明は、上述の方法を実施する働きをする装置に関するものでもある。本発明の態様の1つによれば、生体分子の存在および濃度の両方または一方を検出するためのこうした装置は、可視光のスペクトル内であることが望ましい電磁波源、電磁波源から放出される電磁波にp偏向を施す偏向手段と、p偏向を施された電磁波の方向付けをし、光学的に濃度の高い媒体を通して、光学的に濃度の高い媒体と光学的に希薄な媒体の間の界面に達するようにするための手段と、界面上の、金属フィルムが望ましい。薄い導電性フィルムまたは半導体フィルムと、界面において生体分子によって反射され、あるいは、発生する放射線をモニタする第1のモニタ手段と、界面において反射される電磁波の強度を検出する強度検出手段と、界面において反射される電磁波の強度に従って、衝突するp偏向電磁波の入射角を制御し、強度が、表面プラズモン共鳴の発生に対応した最小値にほぼ保たれるようにする制御手段から構成される。

【0038】当該技術の熟練者には明らかなように、上述の第2のモニタ手段と強度検出手段は、1つのコンポーネントに一体化することができるし、あるいは両方のタスクを共通のコンポーネントによって実施することもできる。同様に、第1と第2のモニタ手段は、共通のコンポーネントにすることが可能である。上記とはとりわけ、吸収を利用して、生体分子を検出する場合、従って、界面で反射する電磁波の角度、および、生体分子によって反射する電磁波の角度が、ほんのわずかしかわらない場合に当てはまることである。しかし、上述の角度における差が顕著な、蛍光および燐光を利用する場合には、異なるモニタ手段を利用することが可能である。

【0039】一般に、第1のモニタ手段、第2のモニタ手段、および、強度検出手段は、任意の適合する方法で組み合わせることが可能である。例えば、上記角度が少しだけしか異ならない場合には、同じ検出器を利用して、界面から放出される電磁波、および生体分子によって放出される電磁波（例えば、光）を記録することができる。ダイオード・アレイは、こうした環境に適した検出器と思われる。フィルタを利用することも可能である。

【0040】入射角を制御する（あるいは補正する）ための各種代替がある。光学的に濃度の高い媒体が透明なプリズム（例えば、ガラス）である望ましい実施例の場合、こうしたプリズムは、制御手段によって発生する制



御信号に基づいて、モータ（ステップ・モータのような）で回転する回転式支持体に取り付けることが可能である。入射角が $\Delta\theta$ だけ回転すると、第2のモニタ手段は、 $2 \times \Delta\theta$ だけ回転する。従って、ガラス製プリズムが $\Delta\theta$ だけ回転すると、第2のモニタ手段を $2 \times \Delta\theta$ だけ回転させるギヤのような伝動手段を備えるのが有利である。この機能を果たすテーブルまたはディスクは、当該技術において周知のところであり、市販されている。

【0041】ただし、留意しておくべきは、さらに、プリズムの中心まわりの円形経路に沿って放射源を移動させるか、あるいは、放射源アレイを利用することによって、制御信号に応じて、入射角を変更することも可能であるが、この場合、制御信号に従って所定の時点に活動（すなわち、放射）するのは、これらの放射源の一方だけであるということである。

【0042】制御信号の発生についても、いくつかの有利な方法がある。これらの解決法の1つ、すなわち、現在の動作点に隣接した領域を探索して、最低強度を求める解決法（ソフトウェアで解決することができる）については、上で既に解決した。こうした探索を実施する方法の1つについては、詳細な説明において述べることにする。もう1つの適合する解決法によれば、第2のモニタ手段は、少なくとも中心モニタ素子と、少なくとも、前記中心モニタ素子の任意の側における横方向素子を備えた、できれば、フォトダイオードまたはフォトトランジスタといった、モニタ素子からなるアレイによって構成され、この場合、前記横方向素子の1つによって記録される強度が、前記中心素子によって記録される強度より低いと、少なくとも制御信号を発生する制御信号発生手段が設けられており、前記制御信号は、前記制御手段に送られる。

【0043】すでに概説したように、本発明の主たる目的は、生体分子に結合されたエネルギー量を正確に制御することにある。本発明によれば、透過率は常にほぼ100%になることが保証されるので、そのエネルギー出力を検査を受ける生体分子に適応させるには、可調整放射源を備えるのがさらに有利である。ただし、あるタイプの生体分子だけしか検査しない場合には、放射源は、調整可能である必要はない。

【0044】以上の方法および装置は、デオキシリボヌクレアーゼ酸の分子の検出に特に有効であり、適していることが証明されている。ただし、他の種類の生体分子についても、こうした方法および装置によって、確実に検出することができるのは、明らかである。

【0045】

【実施例】図6に示す先行技術による構成の場合、可視スペクトル内のp偏向のような電磁放射線の発生源1が設けられている。この光は（光線2）、レンズ1aを介して半円形のガラス製プリズム3に送り込まれる。溶媒4には、検出すべき、溶解したDNA分子が含まれてい

る（図6の場合、そのうちの3つ、5a、5b、および5cには標識が付けられている）。ガラス製プリズム3は、溶媒4に関して、光学的に濃度の高い媒体として働き、溶媒は、光学的に希薄な媒体をなす。

【0046】入射角 $\theta$ は、全反射が生じるように、すなわち、 $\theta \geq \theta_{cr}$ （臨界角）になるように選択される。

【0047】全反射が生じると、エバネセント波が発生し、波長の一部が光学的に希薄な媒体（溶媒4）に侵入する。このエバネセント波は、図では6で表示されている。溶媒4に正味エネルギーの流れ込むことはないが、エバネセント波6の電界振幅は、ガラス製プリズム3と溶媒4の界面において最大であり、界面からの距離に応じて指数関数的に減衰する。

【0048】図6の場合、DNA分子5a~5bには、蛍光物質で標識付けが施される。エバネセント波6が蛍光物質を励起させ、これによって、周波数の低い光が放出される（損失のため）、すなわち、 $\nu_{emitted} \leq \nu_{impinging}$ 、ここで、 $\nu_{emitted}$ は、蛍光物質から放出される光の周波数を表し、 $\nu_{impinging}$ は、入射光（参照番号2）の周波数を表している。また、 $\nu_{emitted} = \nu_{impinging} - \Delta\nu$ と書くことも可能であるが、ここで、 $\Delta\nu$ は、蛍光物質の損失を表している。

【0049】蛍光物質から放出される光は、光線8によって示すように、結合によって、ガラス製プリズム3に戻る。周波数が異なるため、放出される光の角度 $\theta$ は、入射光の角度 $\theta$ と全く同じにはならない（留意しなければならないのは、これが、この用語の一般的な意味による「反射された」光ではないという点である）。次に、光線8は、光学フィルタ9に達し、周波数 $\nu_{emitted}$ の光だけが通される、すなわち、蛍光物質から放出された光でなければ、ブロックされる。フィルタリングを施した光（光線10）は、検出器11に送られる。

【0050】検出器11に入射する光の強度は、この場合、蛍光物質によって標識付けされたDNA分子の量に正比例する。

【0051】図7には、表面プラズモン波による生体分子の励起に関する先行技術による構成が示されている。放射源12によって発生するp偏向は、フィルタ13に送られ、さらに、ガラス製プリズム14に送られる（光線15）。図6の構成と図7の構成との主たる相違は、ガラス製プリズム14と溶媒17の間に薄い金属層16が設けられている点である。さらに、誘電層18によって、金属層16が溶媒17から分離される（図7には示されていないが、金属層16とガラス製プリズム14の間に、同様の誘電層を設けることも可能である）。

【0052】入射光が界面19に角度 $\theta = \theta_{SPR}$ で当たると、表面プラズモン共鳴（SPR）、すなわち、金属フィルムにおける集団電子振動に関連した表面モード

が生じる。表面プラズモン波は、界面 20（溶媒 17 との界面）に沿って伝搬する「束縛」波である（すなわち、エネルギーが放出されない）。表面プラズモン波は、溶媒 17 の表面に沿ってだけでなく、金属フィルム 16 にも伝搬する。誘電フィルム 18 が、金属フィルム 16 への伝搬による損失を減少させる。

【0053】一般には、後述のように、 $\theta_{SPR} < \theta_{Cr}$  の DNA 分子 21a ~ 21c は、界面 20 における屈折率を変化させる。この屈折率の変化は、検出器 22 によってモニタさせることができる。検出器 22 に対するこの光線は、図 7 において 23 で表示されているが、もう 1 つのフィルタに通されることになる。検出器 22 に送られる光の角度  $\phi$  は、DNA 分子 21a ~ 21c によって生じる屈折率、すなわち、 $\phi \neq \theta$  のため、入射角  $\theta$  とは異なる。

【0054】図 8 には、入射角  $\theta$  に応じた p 偏向の反射率が示されている。臨界角  $\theta_{Cr}$ （ブルースター角  $\theta_{Br}$  より大きい臨界角）において全反射が生じる。この角度において、p 偏向の反射率は、ほぼ 1 になる。反射率の急激な降下が、 $\theta = \theta_{SPR}$  において観測される。これは、表面プラズモン共鳴の発生する入射角である。留意すべきは、 $\theta = \theta_{SPR}$  における最低値は、極めて小さいという点である。すなわち、入射角がさらに増すと、すなわち、 $\theta > \theta_{SPR}$  になると、表面プラズモン共鳴は、生じない。同じことが、 $\theta < \theta_{SPR}$  の場合にも言える。

【0055】DNA 分子を界面に吸収させる本発明の基本アプローチが、図 1 に示されている。この図では、金属フィルムは 25 で表示されており、26 は誘電層である。「目標 DNA」、すなわち検出すべき DNA は、27 で示されている。

【0056】誘電層 26 には、捕獲 DNA 28 による「コーティング」が施されている。捕獲 DNA 28 は、誘電層 26 に固定化されており、目標 DNA 27 に対して相補性の構造を備えている。

【0057】測定時、目標 DNA 27 に加え、相補性 DNA、すなわち、標識 DNA 29 も、水のような溶媒に溶かされる。目標 DNA 27 の一部は、溶液中において標識 DNA 29 と混成する。次に、目標 DNA 27 の別の部分が、捕獲 DNA 28 と混成し、複合体全体が界面に固定化される。第 1 の混成（目標 DNA と標識 DNA）、すなわち、溶媒中における 3 次元の混成の方が速く行われ、目標 DNA / 捕獲 DNA の 2 次元の混成は、遅くなる。

【0058】捕獲 DNA 29 は、上述のように、蛍光物質 30 に化学的に結合する。蛍光物質の量は、従って、溶液中における目標 DNA の量により測定される。

【0059】図 2 に示す本発明の実施例の場合、光源 31 は、制御手段 32 で示すように調整可能である。制御手段 32 は、光源 31 のエネルギー出力、すなわち、放出

されるビームの強度を制御する。このビームは、p 偏向を発生するため、偏向子 33 に通される。

【0060】図 2 の実施例の場合、3 つの層、すなわち、第 1 の誘電層 36、金属層 37、および、第 2 の誘電層 38 が、ガラス製プリズム 35 に隣接している。留意しなければならないのは、これらの層の厚さは、先行図の場合と同様、図示のため、誇張して描かれている。実際には、該厚さは、数 nm しかない。従って、上述のように、該層は、溶液中の目標 DNA および標識 DNA を含んでいる溶媒 40 との界面 39 を形成している。これらの DNA 分子は、やはり、上述のように、界面に吸収される。吸収される DNA の一部が、例示のために描かれている。参照番号 41a、41b および 41c 参照のこと。

【0061】入射点 34 を通過してプリズム 35 に入射した光ビーム 42 は、入射角  $\theta$ （すなわち、界面における入射光と法線との角度）で界面 39 にぶつかる。入射角  $\theta$  は、表面プラズモン共鳴が、 $\theta = \theta_{SPR}$  の場合に発生するように選択される。

【0062】ただし、留意すべきは、入射光ビームが界面にぶつかるポイントから 2 つの光線 43 および 44 が生じるということである。

【0063】光線 43 は、界面において反射する励起光に対応する。光線 43 の反射角  $\delta$  は、入射角  $\theta$  に等しく、 $\delta = \theta$  である。

【0064】標識 DNA が蛍光物質による標識付けを施されているものと仮定すると、表面プラズモン波によって、蛍光標識が励起され、放出される光の波長が長くなるか、あるいは、短くなる。すなわち、 $\lambda_{emitted} > \lambda_{impinging}$ 、および、 $\nu_{emitted} < \nu_{impinging}$ （ $\lambda$  : 波長、 $\nu$  : 周波数）となる。

【0065】蛍光標識によって放出される光は、もう 1 つの表面プラズモン波による結合によってガラス製プリズムに戻される（すなわち、放出される光によって界面に表面プラズモン波が発生し、これによって、さらに、ガラス製プリズムを通る光線が生じることになる）。これは、図 2 において光ビーム 44 で示してある。周波数の低下によって、その反射角  $\phi$  は、入射角と異なることになる。通常、角度  $\delta$  と  $\phi$  の差は、約  $1^\circ \sim 2^\circ$  である。すなわち、 $\phi - \delta \approx 1^\circ \sim 2^\circ$  である。

【0066】光線 43 および 44 は、異なる検出器 46 および 45 によって検出される（他の実施例については、後述する）。当該技術の熟練者には周知のように、検出器 45 が受ける光線の角度を利用して、目標 DNA の濃度が求められる。

【0067】検出器 46 の出力は、強度検出器 47 に送られる。本発明の目標は、表面プラズモン共鳴にとって最適に、すなわち、 $\theta = \theta_{SPR}$  になるように該装置を操作して、この強度をできるだけ低く保つことにある。

【0068】このステップは、制御装置48によって実施され、該制御装置は、さらに、入射角 $\theta$ の制御を行う（フィードバック49）。入射角の変更および制御は、さまざまな方法で行うことが可能であり、詳細については、後述することにする。

【0069】図2には、本発明による装置の基本構造について、概要が示されている。さらに詳細な説明については、次に、図3に関連して行うことにする。

【0070】図3によれば、例えば、ヘリウム・ネオン・レーザのようなレーザ50の光が、偏向子51に、さらに、アイリス52に送られる（アイリスは、迷光を減少させるために用いられる）。入射光は、さらに、第1のミラー53および第2のミラー54によって、第2のアイリス55、次いで、ガラス製プリズム56に送られる。

【0071】ミラー54は、半透過性ミラーである。このミラーに入射する光子の中には、アイリス55の方向に反射せず、代わりに、ミラーを透過するものもある。これらの光子は、コンピュータ58に接続された検出器57にぶつかる。検出器57によって記録される信号は、基準信号として、例えば、レーザ50のエネルギーを制御したり、あるいは、測定を受けるDNA濃度を正常化するために利用される。

【0072】ガラス製プリズム56の詳細、および、目標DNAおよび標識DNAが界面に吸収される方法は、図2に関連して解説した内容と同じであり、ここでは取り上げない。DNA分子を吸収した界面の概略が、図3に参照番号59によって示されている。

【0073】ガラス製プリズム56は、回転デスクまたはテーブル60に取り付けられている。回転の目的の1つは、入射光の角度 $\theta$ を表面プラズモン共鳴にとって最適の角度、すなわち、 $\theta = \theta_{SPR}$ に保つことにある。回転デスク60のシャフトは、回転に適した手段、例えば、ステップ・モータ（図示せず）に接続されている。さらに、回転デスク60が回転する2個の速度または角度で、第2の検出器61を回転させる伝動装置（例えば、大歯車）が設けられている。例えば、回転デスク60が増分 $\Delta\theta$ だけ回転すると、検出器61は、増分 $2 \times \Delta\theta$ だけ回転することになる。この機能を果たす回転デスクは、当該技術において既知のところであり、ここでは明示しない。

【0074】検出器61には、界面で反射した光に加え、蛍光標識から放出された光をも記録する手段が含まれている。留意すべきは、（図2の環境におけるように）独立した検出器は、設けられていないという点である。これらの光ビーム間における角度の差がわずかなため、単一の検出器を利用することができる。実際、光線62は、両方の光ビームを表している（界面で反射した光、並びに、蛍光標識から放出された光）。

【0075】しかし、上述の光ビームは、区別が容易で

ある。まず、例えば、検出器61において、角位置がわずかにオフセットした2つの検出器を利用することができる。また、適当なフィルタを利用することも可能である（一方のフィルタが励起光を通過させ、もう一方のフィルタは蛍光の波長に適合する）。フィルタを時間多重化モードで動作させ、単一検出器が、ある時点において励起光を受け、別の時点において蛍光波長を受けるようにすることができるので、好都合である。当該技術の熟練者には、他の構成も明らかである。

【0076】検出器61が検出する信号は、コンピュータ58に送られ、このコンピュータは、反射励起光の強度を利用して、回転デスク60の駆動手段（例えば、ステップ・モータ）を制御し、フィードバック・ループ63で示すように、入射角 $\theta$ を表面プラズモン共鳴にとって最適の位置に保つ。次に、蛍光の強度を利用して、ガラス製プリズム56の界面におけるDNA分子の濃度を計算する。コンピュータ58は、さらに、用紙に結果を記録するため、プロッタに接続されている。

【0077】図4のフローチャートには、コンピュータが、いかにして、入射角 $\theta$ を表面プラズモン共鳴にとって最適の位置に保つことができるかが示されている。図4に示すルーチンは、離散的な時間間隔で行われ、割り込みによって開始される。

【0078】「開始」の表示（参照番号65）からルーチンに入る。該ルーチンでは、まず、反射励起信号 $I_n$ の強度が、フローチャートを最後に実施したときの測定強度 $I_{n-1}$ より大きいかなどかをチェックする（参照番号66）。答えがイエスの場合、これは、該装置が、おそらく、最適な入射角で動作していないということになり、操作は囲み67に進む。留意しなければならないのは、可能性のある強度の増大、すなわち、 $I_n > I_{n-1}$ は、必ずしも入射角が最適であることを表していないという点である。強度は、温度の影響、界面に対する不特定分子の結合等によって、入射角のシフトを伴わずに増大する可能性がある。しかし、上述の効果の1つによって、強度の最低値が別の角度に移動した可能性はかなり高い。同様に、該装置の単なる調整ミスであることも考えられる。

【0079】強度の増大が認められなければ、たまたま動作点が最適でないという可能性がある。例えば、最低強度のレベルが低下し、同時に最低強度がわずかにシフトしたものと仮定する。こうした場合、ある動作点における強度は、増大しないか、あるいは、わずかに減少を示すことさえあるかもしれないが、この動作点は、もはや、 $\theta = \theta_{SPR}$ のポイントではない。

【0080】従って、提示のルーチンでは、時々、強度の増大が示されたか否かに関係なく、現在の動作点が最適か否かのチェックが行われる。これが、囲み68で示されている。最後のチェック以来の時間 $T$ が、あらかじめ設定された値 $T_{MAX}$ を超えている場合、次のチェッ

クが必要になる。TMAXの選択は、例えば、数分の場合もあれば、あるいは、数時間の場合さえある。

【0081】TMAXを超えず、また、強度も増大しないという場合、再調整は不要である。操作が囲み69に進み（タイマTの増数）、次に、ルーチンを出る（ライン70、「戻り」表示71）。別様であれば、タイマTは、ゼロにセットされる。（囲み72）。

【0082】再調整が必要な場合、ルーチンは、現在の動作点に隣接した領域を走査して、新しい最小値を求める。ルーチンのこの部分は、囲み67で開始され、一時カウンタmが、セット・アップされる（ルーチンのこの部分のためだけに）。

【0083】囲み73において、カウンタmが増数し、入射角 $\theta$ があらかじめ設定した値 $\Delta$ （例えば、ステップ・モータの1ステップに相当する）だけ $\theta$ が小さくなる。図3を参照すると、これは、回転デスク60の反時計回り方向における回転と考えられる。

【0084】次に、新しい動作点における強度 $I_m$ とその前の値の比較が行われる（参照番号74）。低下していれば（ライン75）、これは、現在の入射角が、その以前の値に比べて、最低値に近いということになり、同じ方向に回転が続行される。

【0085】一方、新しい角度における強度が、以前の角度における強度を超えると、回転デスクは、回転しすぎたことになる。従って、最終ステップは、デスクを逆方向に回転させて補正される。

【0086】同様に、次に、ステップ77において、別の方向における最低値の有無をチェックするため、入射角を大きくする（回転デスク60の反時計回り方向の回転）。ステップ78および79は、ステップ74および76に対応する。

【0087】留意すべきは、ルーチンの終了時には、入射角が以前の角度と一致するのであろうということである。これは、例えば、タイマTの満了によって、検索が開始されるが、最低強度の移動がないという場合である。

【0088】図4のフローチャートには、入射角を制御するための極めて単純なルーチンが示されている。当該技術の熟練者であれば、例えば強度の導関数 $dI/dt$ を考慮し、局所的最低値の存在する場合でも、大域最低値を探索する。より高度なプログラムの開発が可能である。

【0089】図5には、入射角を制御することの可能なもう1つの方法が示されている。中心フォトダイオード80aと2つの横方向フォトダイオード80bおよび80cからなるフォトダイオード・アレイ80が、反射励起光を受ける。該ダイオードは、互いに少し間隔を開けて配置されている。

【0090】フォトダイオード80bおよび80cが受ける迷光は、わずかに異なる入射角を表している。中心

フォトダイオード80aが、全てのフォトダイオード中で最低強度を受けている限りは、該装置は、 $\theta = \theta_{SPR}$ 、すなわち、最適条件で動作していることになる。こうした場合、コンパレータ81および82は、負の信号またはゼロ信号を発生するので、ステップ・モータはデスク60を回転させない。すなわち、何も起こらない。コンパレータ81は、その反転入力において、ライン83の、フォトダイオード80cからの強度信号を受け、その非反転入力において、ライン84の、フォトダイオード80aからの強度信号を受ける。同様に、コンパレータ82は、その反転入力において、ライン85の、フォトダイオード80bからの強度信号を受け、その非反転入力において、ライン86の、フォトダイオード80aからの強度信号を受ける。

【0091】例えば、ここで、フォトダイオード80cの強度信号が、中心フォトダイオード80aが示す強度より低いものと仮定する。これは、該装置の調整ミスであることを表している。次に、デスクを回転させるため、コンパレータ81は、正の制御信号をライン87に送り出す。フォトダイオード・アレイ80が図3の検出器61の一部である場合、これは、入射角を小さくするために、デスクを右方向すなわち時計回り方向に回転させなければならないということになる。次に最低強度が、フォトダイオード・アレイ80の中心、すなわち、中心フォトダイオード80aの方向にシフトする。

【0092】回転は、中心フォトダイオード80aが最低強度を記録するまで続行される。同様に、フォトダイオード80bが最低強度を記録すると、デスクは、制御ライン88を介して反時計回り方向に回転する。

【0093】図5は、本発明を明らかにする一例にすぎない。例えば、横方向のフォトダイオード数を増やすこともできるし、フォトダイオード以外の感光素子を用いることができるのも明らかである。

【0094】本発明について、特定の実施例に関連して、解説し、例示してきたが、当該技術の熟練者には明らかのように、上述の、および下記請求項に記載の本発明の原理を逸脱することなく、修正および変更を加えることが可能である。

【0095】

【発明の効果】本発明は、上記のように構成したので以下の効果を奏することができる。p偏向電磁波の入射角を表面プラズモン共鳴にとって理想の角度 $\theta_{SPR}$ にほぼ一致させることができる。これにより、生体分子に結合されるエネルギーの正確な制御が可能となり、生体分子の存在や濃度の最適な測定が可能となり、また生体分子に損傷を与えることなく、精度の高い検出を行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】DNAストランドの吸収のメカニズムを示す説明図である。

【図2】本発明の検出装置の一実施例を示す図である。

【図3】本発明の検出装置の一実施例を示す図である。

【図4】反射光の最小強度を検出するためのフローチャートである。

【図5】フォトダイオード・アレイに基づく代替の制御機構を示す図である。

【図6】エバネセント波を発生させるための生体分子を励起し、生体分子の濃度を測定するための第1の従来例を示す図である。

【図7】表面プラズモン共鳴（SPR）を発生させることにより導体や半導体を励起し、生体分子の濃度を測定するための第2の従来例を示す図である。

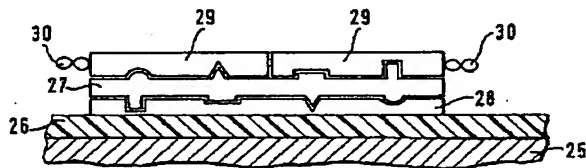
【図8】偏向した光の反射率を示すための図である。

【符号の説明】

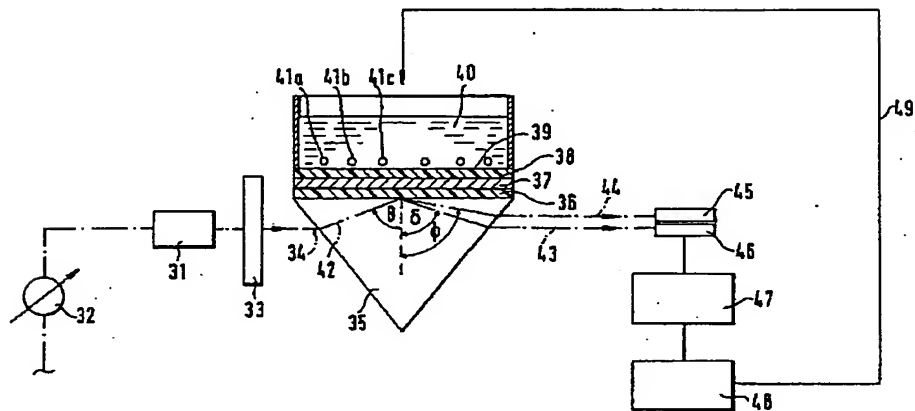
31 光源  
32 制御手段

33 偏向子  
34 入射点  
35 プリズム  
36 第1の誘電層  
37 金属層  
38 第2の誘電層  
39 界面  
40 溶媒  
41a~41c DNA  
42 光ビーム  
43, 44 光線  
45, 46 検出器  
47 強度検出器  
48 制御装置  
49 フィードバック

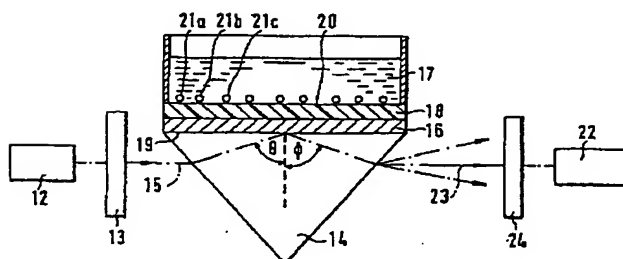
【図1】



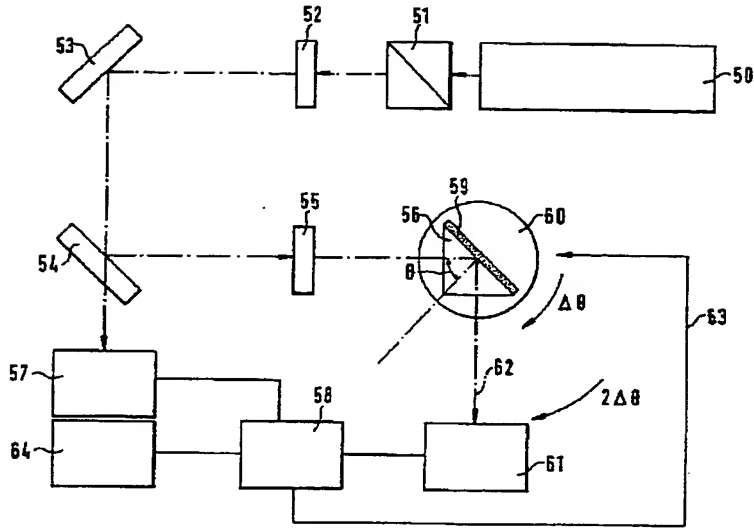
【図2】



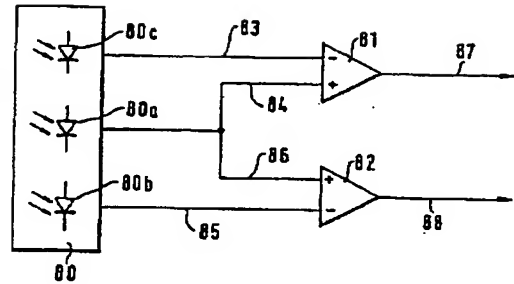
【図7】



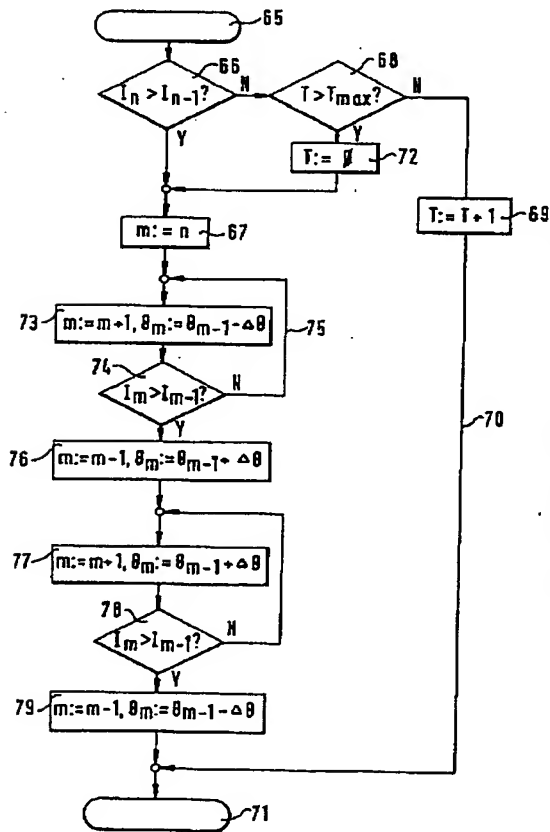
【図 3】



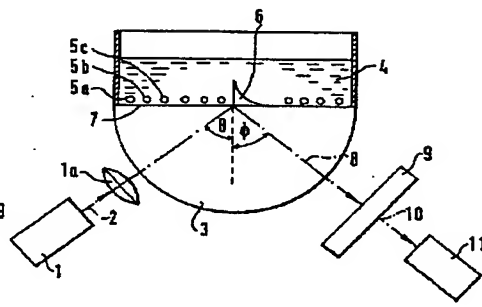
【図 5】



【図 4】



【図 6】



【図 8】

